

BAB III

MATERI DAN METODA PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Ekologi dan Produksi Tanaman, dan Rumah Kaca Fakultas Peternakan dan Pertanian (FPP), Laboratorium *Tropical Marine Biotechnology*, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan (FPIK), Universitas Diponegoro, Semarang pada 3 Agustus - 25 November 2018. Konsep Alur Penelitian dapat dilihat pada Lampiran 1.

3.1 Materi Penelitian

Bahan tanam yang digunakan adalah benih kedelai varietas Anjasmoro yang diperoleh dari Balitkabi Malang (Lampiran 2). Tanah yang digunakan merupakan tanah salin jenis Alluvial dengan nilai *Electrical Conductivity* (EC) 3,77 dS/m dengan pH H₂O 7,89. Bahan-bahan kimia yang digunakan antara lain alkohol 70%, Buffer fosfat pH 7,4, NaNO₃, larutan NED dihidroklorida, larutan SA, media YEMA+CR (*Yeast Extract Mannitol Agar+Congo Red*), dan aquades.

Jenis pupuk yang digunakan adalah pupuk kandang sapi dan urea. Pupuk TSP dan KCl digunakan sebagai pupuk dasar. Inokulum *Rhizobium* diperoleh dari stok koleksi isolat strain KK8 Laboratorium Ekologi dan Produksi Tanaman, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, dan Rhizoka sebagai inokulum komersial (kontrol positif) yang mengandung *Bradyrhizobium japonicum* $4,3 \times 10^7$ cfu/g. Alat yang digunakan pada penelitian ini meliputi alat budidaya tanaman, timbangan, meteran, alat tulis, kamera dan peralatan lain yang diperlukan di

lapangan. Alat-alat yang digunakan untuk pengambilan contoh tanah dan akar tanaman adalah kantong plastik, spidol, dan kertas label. Pengamatan di laboratorium menggunakan pipet, timbangan analitik, gunting, spektrofotometer UV-vis, gelas ukur, erlenmeyer, tabung reaksi, tabung film, mortar, *laminar air flow*.

3.2. Metoda Penelitian

Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola faktorial 3x5 dengan 3 kali ulangan. Faktor pertama adalah inokulasi *Rhizobium* (R) meliputi R₁= Tanpa inokulasi *Rhizobium* (kontrol), R₂= Inokulasi Inokulum komersial, dan R₃= Inokulasi *Rhizobium* toleran salin (tahan pada 10.000 ppm NaCl). Faktor kedua yaitu pemberian pupuk (P) meliputi P₁= Pemupukan urea 75 kg/ha, P₂= Pupuk kandang 7,5 ton/ha, P₃= Zeolit 7,5 ton/ha, P₄= Pemupukan urea 75 kg/ha + zeolit 7,5 ton/ha, P₅= Pupuk kandang 7,5 ton/ha + zeolit 7,5 ton/ha. Layout pot percobaan seperti pada Lampiran 3.

Persiapan tanah dan aplikasi pupuk. Tanah diambil dari areal lahan pertanian warga Kelurahan Karanganyar, Kecamatan Tugu, Kota Semarang kemudian dianalisis untuk mengetahui kadar N, P, K, pH, C-organik, rasio C/N, dan nilai EC (*Electrical Conductivity*) (Tabel 3). Tanah ditempatkan dalam pot diameter 35 cm dan disterilkan menggunakan teknik sterilisasi panas uap selama 6 jam. Pupuk KCl dan SP-36 sebagai pupuk dasar masing-masing diberikan sesuai rekomendasi sebanyak 0,35 gram/pot atau setara dengan 100 kg/ha bersamaan dengan waktu tanam benih. Pupuk urea diberikan pada perlakuan sesuai dosis

rekomendasi sebanyak 0,26 g/pot atau setara dengan 75 kg/ha. Pupuk kandang dan zeolit diberikan masing-masing sebanyak 26,2 g/pot atau setara dengan 7,5 ton/ha pada 1 minggu sebelum tanam. Analisis kandungan pupuk kandang yang digunakan pada penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Kandungan Unsur Hara Pupuk Kandang Sapi

Sampel	Kandungan (%)							C/N
	N	P ₂ O ₅	K ₂ O	KA	BK	BO	C-Organik	
Pupuk Kandang	1,59	1,56	0,38	47,8	52,19	50,62	29,35	18,45

* KA = Kadar Air, BK= Berat Kering, BO= Bahan Organik

Persiapan inokulum dan inokulasi bakteri *Rhizobium*. Bakteri *Rhizobium* koleksi strain isolat KK8 diseleksi pada media YEMA+CR dengan penambahan 10.000 ppm NaCl dan ditemukan isolat toleran salin, dikultur hingga mencapai fase eksponensial. Setiap pot ditanamkan 5 benih kedelai yang telah diinokulasi *Rhizobium* isolat KK8-10 (8×10^7 cfu/ml) sebanyak 20 ml dan Rhizoka diberikan 5 g/kg benih).

Penanaman dan Pemeliharaan kedelai. Penanaman dilakukan pada tanggal 30 Agustus 2018. Sebelum ditanam, benih diseleksi dan dipilih seragam serta baik secara fisik. Penanaman dilakukan pada pagi hari. Benih ditanam dengan kedalaman ± 3 cm dan ditutup dengan tanah. Penjarangan menjadi 2 tanaman/pot dilakukan saat tanaman berumur 7 hari setelah tanam (HST). Pupuk urea diberikan 7 HST sebanyak 0,13 gram/pot (37,5 kg N/ha). Perhitungan dosis pemupukan dapat dilihat pada Lampiran 4. Pemeliharaan tanaman terdiri atas kegiatan penyiraman dan pengendalian OPT (Organisme Pengganggu Tanaman). Pengendalian OPT

dilakukan secara mekanik dan menggunakan pestisida sintetis. Ajir bambu diberikan pada setiap pot untuk menyangga tumbuhnya tanaman kedelai.

Panen dan Pengamatan. Panen dilakukan pada tanggal 10 November 2018 (70 HST). Pengamatan dilakukan terhadap parameter pertumbuhan dan produksi kedelai. Parameter yang diamati pada penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Parameter Pengamatan Penelitian

No	Parameter	Satuan	Waktu Pengamatan	Keterangan
1	Tinggi tanaman	cm	Setiap minggu	Selama 3-9 MST
2	Jumlah daun trifoliat	helai	Setiap minggu	Selama 3-9 MST
3	Kadar klorofil	mg/g	6 MST	-
4	Aktivitas nitrat reduktase	$\mu\text{mol NO}_2^-$ g-1 jam-1	6 MST	-
5	Jumlah bintil Akar Efektif	buah	10 MST	-
6	Panjang akar	cm	10 MST	-
7	Jumlah bunga	buah	5 MST	-
8	Jumlah cabang produktif	buah	9 MST	-
9	Jumlah polong per tanaman	buah	10 MST	-
10	Bobot 100 biji	g/100 biji	10 MST	-

Pengukuran parameter tinggi dilakukan dengan cara mengukur tinggi dari pangkal batang sampai dengan titik tumbuh tanaman. Jumlah daun dihitung setiap helai daun trifoliat. Parameter fisiologi dilakukan dengan pengukuran kandungan klorofil, aktivitas nitrat reduktase. Perhitungan kadar klorofil total dilakukan dengan rumus sebagai berikut :

$$\text{Klorofil total} = (8,02 \times A_{663} + 20,20 \times A_{645}) \times \frac{\text{Volume pengenceran}}{1000} \times \frac{1}{\text{berat sampel}}$$

Perhitungan aktivitas nitrat reduktase (ANR) dihitung menggunakan rumus sebagai berikut :

$$\text{ANR} = \frac{\text{Abs. 540 nm}}{\text{Abs. Standar}} \times \frac{5,0}{0,1} \times \frac{1000}{\text{Berat sampel} \times 1000 \text{ (mg)}} \times \frac{1}{\text{Waktu Inkubasi}} \times \frac{1}{1000}$$

Jumlah bintil akar efektif dan panjang akar dilakukan pengamatan pada saat tanaman memasuki 10 MST. Pengukuran parameter produksi dilakukan pada jumlah bunga, jumlah cabang produktif, jumlah polong per tanaman dan hasil biji. Jumlah bunga dihitung pada 5 MST. Jumlah cabang produktif dilakukan dengan cara menghitung semua cabang yang berasal dari bagian batang utama yang menghasilkan polong bernas saat panen. Jumlah polong dihitung berdasarkan seluruh polong yang muncul dalam satu tanaman saat panen. Polong hasil panen dikering anginkan selama satu minggu, kemudian biji dipisahkan dari polong, ditimbang untuk mengetahui bobot 100 biji.

3.3. Analisis Data

Model linier yang digunakan dalam Rancangan Acak Lengkap (RAL) factorial adalah sebagai berikut :

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \epsilon_{ijk}; \text{ dengan } i = 1, 2, 3; j = 1, 2, 3, 4, 5; k = 1, 2, 3$$

Keterangan :

- Y_{ijk} = Hasil pengamatan faktor inokulasi bakteri *Rhizobium* toleran salin ke-i, faktor pemberian berbagai jenis pemupukan ke-j, pada ulangan ke-k
- μ = Rataan umum
- α_i = Pengaruh faktor A ke-i
- β_j = Pengaruh faktor B ke-j
- $(\alpha\beta)_{ij}$ = Interaksi antara faktor inokulasi bakteri *Rhizobium* toleran salin ke-i dan pemberian berbagai jenis pemupukan ke-j
- ϵ_{ijk} = Galat percobaan untuk faktor A ke-i, faktor B ke-j pada ulangan ke-k

Hipotesis statistik yang diuji adalah sebagai berikut:

Pengaruh faktor inokulasi *Rhizobium*

$$H_0 = \alpha_1 = \alpha_2 = \alpha_3 = 0$$

Tidak ada pengaruh perlakuan inokulasi *Rhizobium* yang berbeda terhadap respon pertumbuhan tanaman kedelai

$$H_1 = \alpha_1 \neq \alpha_2 \neq \alpha_3 \neq 0$$

Paling sedikit ada satu pengaruh perlakuan inokulasi *Rhizobium* yang berbeda terhadap respon pertumbuhan tanaman kedelai

Pengaruh faktor pemberian pupuk

$$H_0 = \beta_1 = \beta_2 = \beta_3 = \beta_4 = \beta_5 = 0$$

Tidak ada pengaruh pemberian pupuk yang berbeda terhadap respon pertumbuhan tanaman kedelai

$$H_1 = \beta_1 \neq \beta_2 \neq \beta_3 \neq \beta_4 \neq \beta_5 \neq 0$$

Paling sedikit ada satu pengaruh pemberian pupuk yang berbeda terhadap respon pertumbuhan tanaman kedelai

Pengaruh interaksi faktor inokulasi *Rhizobium* dengan pemberian pupuk

$$H_0 = \alpha_1\beta_1 = \alpha_1\beta_2 = \alpha_1\beta_3 = \alpha_1\beta_4 = \alpha_1\beta_5 = \alpha_2\beta_1 = \alpha_2\beta_2 = \alpha_2\beta_3 = \alpha_2\beta_4 = \alpha_2\beta_5 = \alpha_3\beta_1 = \alpha_3\beta_2 = \alpha_3\beta_3 = \alpha_3\beta_4 = \alpha_3\beta_5 = 0$$

Tidak ada pengaruh interaksi pemberian inokulasi *Rhizobium* dan pemberian pupuk yang berbeda terhadap respon pertumbuhan tanaman kedelai

$$H_1 = \alpha_1\beta_1 \neq \alpha_1\beta_2 \neq \alpha_1\beta_3 \neq \alpha_1\beta_4 \neq \alpha_1\beta_5 \neq \alpha_2\beta_1 \neq \alpha_2\beta_2 \neq \alpha_2\beta_3 \neq \alpha_2\beta_4 \neq \alpha_2\beta_5 \\ \neq \alpha_3\beta_1 \neq \alpha_3\beta_2 \neq \alpha_3\beta_3 \neq \alpha_3\beta_4 \neq \alpha_3\beta_5 \neq 0$$

Paling sedikit ada satu interaksi pemberian inokulasi *Rhizobium* dan pemberian pupuk yang berbeda terhadap respon pertumbuhan tanaman kedelai

Semua data dianalisis ragam pada taraf signifikansi 5% dan apabila berpengaruh nyata dilanjutkan dengan *Duncan Multiple Range Test* (DMRT)